

Aus dem Institut für Rechtsmedizin
der Universität Erlangen - Nürnberg
Direktor: Professor Dr. H.-B. Wuermeling

**Methodenprüfung:
Photometrische Thalliumbestimmung
in Blut und Urin**

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen - Nürnberg

vorgelegt von
Maximilian Maier
aus Passau

1984

1984 № 287



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Rechtsmedizin
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Professor Dr. H.-B. Wuermeling

**Methodenprüfung:
Photometrische Thalliumbestimmung
in Blut und Urin**

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Maximilian Maier
aus Passau

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg

Dekan: Prof. Dr. F. Wolf

Referent: Prof. Dr. Dr. M. Geldmacher-v. Mallinckrodt

Korreferent: Prof. Dr. H.-B. Wuermeling

Tag der mündlichen Prüfung: 25.06.1984

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. <u>Einleitung</u>	5
II. <u>Problemstellung</u>	6
III. <u>Thallium</u>	7
1. Vergiftungen	7
2. Klinik der Vergiftungen	8
3. Giftwirkung	8
4. Therapie	9
5. Normalwerte im Körper	10
6. Werte bei tödlichen Vergiftungen	10
7. Ausscheidung	11
IV. <u>Kolorimetrische Bestimmungsmethoden aus der Literatur</u>	12
1. Rhodamin B	12
2. Methylviolett und Brillantgrün	13
3. Brillantgrün	13
V. <u>Analysenmethode nach K.H. Beyer</u>	16
1. Prinzip der Analyse	16
2. Geräte, Chemikalien und Lösungen	17
3. Probenentnahme und Aufbereitung	18
4. Analytische Bestimmung	18
5. Berechnung der Ergebnisse	19
6. Beurteilung des Verfahrens	20
VI. <u>Methodenprüfung</u>	21
1. Vorbereitende Experimente	21
2. Ermittlung der Eichkurve für wäßrige Thalliumlösungen	25
3. Bestimmung der Eichkurve für Urin	27
4. Berechnung des Analysenergebnisses	29
5. Beurteilung des Verfahrens	29
6. Thalliummessung im Blut	30
7. Störeinflüsse durch andere Metalle	31

VII.	<u>Standardisierung der Methode</u>	33
	1. Aufschluß der Proben im Veraschungsgerät	33
	2. Oxidation des Thalliums und Abdampfen des überschüssigen Broms in der Veraschungsapparatur	36
	3. Ermittlung der Eichkurve	37
	4. Berechnung der Ergebnisse	39
VIII.	<u>Vergleich mit anderen Methoden zur Thalliumbestimmung durch</u>	41
	1. Anwendung auf einen klinischen Fall	41
	2. Bestimmung der linearen Regression zweier Thalliumbestimmungsmethoden	42
IX.	<u>Diskussion</u>	47
X.	<u>Zusammenfassung</u>	48
XI.	<u>Literaturübersicht</u>	49

I. Einleitung

Das Schwermetall Thallium (Tl) steht im Periodensystem der Elemente zwischen Quecksilber und Blei.

Es wurde im Jahre 1861 von Sir William Crookes entdeckt und wegen seiner Eigenschaft, farblose Flammen grün zu färben, "Thallium" genannt.

Das Thallium ist ein praktisch überall vorkommendes Spurenelement, das in der Natur jedoch nie allein, sondern immer mit anderen Metallen wie Zink, Kupfer, Eisen und Blei zusammen auftritt, und bei deren Reinigung gewonnen wird.

Die Mengen, in denen Thallium in der Natur vorkommt, sind jedoch für den Menschen toxikologisch ohne Bedeutung. In der Technik findet das Thallium bei Metallegierungen, zur Herstellung von optischen Gläsern, Spezialthermometern, Leuchtkörpern und -kugeln sowie als Holzimprägnierungsmittel und bei der Saatgutbeizung Verwendung. Vorwiegend wird es aber als Rhodentizid (Rattengift) benutzt.

Zu therapeutischen Zwecken wurde das Thallium etwa seit dem Ende des 19. Jahrhunderts verwendet. Eine der ersten Angaben findet man in der Arbeit von Giovannini (1899). Damals verwandte man Thallium als Therapeutikum bei Favus, Mikrosporie sowie Trichophytie zur Epilation (Buschke 1928). In der Homöopathie wurde es zur Förderung des Haarwuchses eingesetzt (Henning 1960).

Obwohl zur Ratten- und Mäusebekämpfung heute immer häufiger Dicumarinpräparate eingesetzt werden, sind jedoch nach wie vor Mittel wie Zeliopaste oder Zeliokörner auf dem Markt, und es kommt immer wieder zu Vergiftungen mit diesen thalliumhaltigen Nagergiften.

II. Problemstellung

Solange thalliumhaltige Präparate zur Schädlingsbekämpfung nicht verboten werden, wird das Thallium wegen seiner hohen Giftigkeit auch für den Menschen in der forensischen Medizin eine große Rolle spielen.

Es ist die Aufgabe der Toxikologen, bei einem Vergiftungsfall eine Verdachtsdiagnose des Arztes zu bestätigen oder zu widerlegen. Durch eine genaue quantitative Bestimmung des Thalliums im Urin können Rückschlüsse sowohl auf den Zeitpunkt der Intoxikation als auch auf die Menge des aufgenommenen Giftes gezogen werden. Es kann außerdem die Schwere des Falles ermittelt und die Wirksamkeit der angewandten Therapie überprüft werden.

Es war Ziel dieser Arbeit, eine von K.H. Beyer veröffentlichte Methode zur Thalliumbestimmung in biologischem Material zu überprüfen, die für die oben aufgeführten Zwecke verwendet werden könnte. Außerdem wurde versucht, das Verfahren durch die Verwendung technischer Neuerungen zu standardisieren und möglicherweise zu verbessern. Zum Schluß wurde ein Vergleich mit anderen Meßmethoden gezogen.

III. Das Thallium

1. Vergiftungen durch Thallium

Bereits um die Jahrhundertwende erkannte man, daß sich Thallium-I-acetat hervorragend als Enthaarungsmittel eignet, und es wurde bei Pilzerkrankungen der Kopfhaut von Kindern verordnet, wonach meist als einzige Wirkung etwa zwei Wochen später Haarausfall eintrat. Bei zu hoher Dosierung oder überempfindlichen Patienten kam es damals bereits zu einigen Todesfällen.

Einen besonderen Aufschwung erlebte das Gift Thallium mit seiner Verwendung als Schädlingsbekämpfungsmittel. Obwohl es durch Warnfarbstoffe gekennzeichnet war, wurde das Rattengift (im Handel als Präparate wie Zeliopaste und Zeliokörner, Mueller 1975) teils von Kindern versehentlich gegessen, teils aber auch zu Mordversuchen verwendet, wie Haberda bereits 1928 beschrieb. Vor allem aber bei Selbstmördern fand das Thallium in dieser Form häufig Verwendung, deshalb steht die Thalliumintoxikation in letzter Zeit unter allen Metallvergiftungen an erster Stelle (Klöppel und Weiler 1978).

Die tödliche Dosis wird von den meisten Autoren mit etwa einem Gramm Thalliumsulfat angegeben (Moeschlin 1980), es wird jedoch auch berichtet, daß höhere Dosen überlebt wurden, während wesentlich geringere Dosen zum Tode führten (Möllhoff 1979).



2. Klinik der Vergiftungen

Die Aufnahme des Thalliums geschieht entweder oral, kann jedoch auch über die Schleimhaut oder die Lunge erfolgen. Nach der raschen Resorption im Darm kommt es manchmal zu Übelkeit und Brechreiz, dem jedoch zunächst meist zwei bis drei symptomlose Tage folgen. Danach treten Schlaflosigkeit und therapieresistente Verstopfungen, begleitet von kolikartigen Bauchschmerzen sowie Kribbeln in Fingern und Zehen auf (Moeschlin 1980). Weiter findet man eine Überempfindlichkeit gegen Druck und Berührung der Haut besonders an den Beinen und Fußsohlen. Damit einher gehen geistige Verwirrtheit und Depressionen, die von anhaltenden Sehstörungen begleitet werden, die bei einem Teil der Vergifteten sogar zur Erblindung führen.

Das auffälligste Symptom der Thalliumintoxikation ist ein bis auf den medialen Teil der Augenbrauen vollständiger Haarausfall am Kopf, der sich in manchen Fällen über den gesamten Körper erstrecken kann und nach etwa 10 Tagen einsetzt. Ebenfalls häufig auftretende Anzeichen sind eine weiße Querstreifung der Finger- und Zehennägel, die sogenannten Meesschen Bänder, und eine Anomalie der Haare, schwarze undurchsichtige Pigmentablagerungen, die Widy 1961 beschrieb.

3. Giftwirkung

Wird eine genügend hohe Dosis Thallium eingenommen (mehr als 1 g Thalliumsulfat), die Vergiftung nicht oder zu spät erkannt oder nicht richtig therapiert, kann es bei der vergifteten Person zum Tode kommen.

Der Mechanismus der Giftwirkung des Thalliums ist noch nicht geklärt. Moeschlin 1980 vermutet, daß es sich bei Thallium wie bei Quecksilber oder Blei um ein allgemeines Zellgift handelt, das gewisse wichtige Enzymsysteme hemmt oder blockiert. Forster 1979 nimmt dagegen ein Eingreifen des Thalliums in den Vitamin B-Stoffwechsel an und hält auch einen Angriffspunkt des Giftes im zentralen Nervensystem für wahrscheinlich.

Wegen der in vielen Fällen vorhandenen Latenzzeit nach der Gifteinnahme, der schnellen Resorption im Darm und der Unkenntnis der Giftwirkung gestaltet sich die Therapie von Thalliumvergiftungen auch heute noch recht schwierig.

4. Therapie bei Vergiftungen

Moeschlin verweist darauf, daß bis heute keine Substanzen bekannt sind, die das einmal resorbierte und an Körperstrukturen gebundene Thallium entgiften können.

Er empfiehlt folgende Maßnahmen:

4.1. Magenspülung

mit 1 %-iger Natriumjodidlösung, wodurch unlösliches Thalliumjodid entsteht, das im Darm nicht mehr resorbiert werden kann.

4.2. Entgiftung

mit Berlinerblau = Antidotum Thalli^R Heyl durch eine Gabe von 3 g pro Tag je nach Schwere des Falles über 2 - 3 Wochen, da das einmal aufgenommene Thallium zum Teil über den Darm ausgeschieden und dort rückresorbiert wird.

4.3. Beschleunigte Elimination und Ausscheidung durch

a) Hämo-perfusion kombiniert mit Hämodialyse.

Auf diese Weise gelingt es, innerhalb von einer Woche etwa 43 % des aufgenommenen Thalliums zu eliminieren.

b) Forcierte Diurese mit Lasix und Mannitol nur wenn die oben genannten Methoden nicht verfügbar sind. Sie sollte über 10 Tage durchgeführt werden, trotzdem aber bleibt Thallium im Urin über Wochen nachweisbar (Klöppel und Weiler 1978).

Die starken Schmerzen der Patienten müssen mit Analgetika aus der Morphinreihe behandelt werden, da sich phenacetinhaltige Schmerzmittel auch in hohen Dosen als wirkungslos erweisen.

5. Normalwerte von Thallium im Körper

Die normale Thalliumkonzentration im menschlichen Körper liegt im Nanogrammbereich. Dieses nachgewiesene Thallium dürfte vor allem durch die Nahrung aufgenommen werden, da das Thallium als Spurenelement in pflanzlichen und tierischen Organismen vorhanden ist.

Weinig und Zink 1967 stellten bei der Untersuchung von nicht gewerblich exponierten Personen fest, daß in allen Organproben zweier sehr gründlich untersuchter Leichen Thallium enthalten und recht gleichmäßig verteilt war.

Lediglich in den Haaren, im Dickdarm, in den Nieren und in den Zähnen scheint es zu einer Anreicherung zu kommen, dagegen konnte in besonders fettreichen Gewebeproben und im Bindegewebe nur wenig Thallium nachgewiesen werden.

Bei der ersten Leiche lagen die Thalliumkonzentrationen zwischen 0,15 und 9,69 ng/g, bei der zweiten Leiche zwischen 0,51 und 15,80 ng/g.

Auch Goenechea und Sellier 1967 wiesen in menschlichen Organen Thalliumkonzentrationen zwischen 0,1 und 0,6 ng/g nach. Diese von ihnen gefundenen Werte stimmen in der Größenordnung mit denen von Weinig und Zink überein.

6. Thalliumwerte bei tödlichen Vergiftungen

Nach Mueller 1975 liegt der Thalliumgehalt der Organe bei akuten tödlichen Vergiftungen etwa im Bereich von 1-10 mg/100 g, gelegentlich auch darüber. Nur die Niere als Ausscheidungsorgan weist in der Regel der Fälle eine höhere Konzentration an Thallium auf.

7. Ausscheidung des Thalliums

Da das Thallium recht lange im Organismus festgehalten wird, zählt es zu den sogenannten Speichergiften. Die Ausscheidung des Thalliums über Niere und Darm erfolgt über einen Zeitraum von mehreren Wochen, wobei im Urin Spitzenwerte von 2,5 mg/100 ml gemessen wurden (Weinig und Schmidt 1962), während die normale Thalliumausscheidung im Urin mit etwa 0,05 - 0,1 ng/ml bestimmt wurde (Weinig und Zink 1967).

Erste systematische Untersuchungen über die Thalliumausscheidung durch den Urin bei Intoxikationen stammen von Weinig und Schmidt (1962). Bei nicht tödlich verlaufenden Vergiftungen stellten sie einen ziemlich gesetzmäßigen Abfall der Thalliumkonzentrationen im Harn fest, bei dem nach etwa 9 - 11 Tagen die Halbwertszeit erreicht ist.

Machbert (1971) hat diese Untersuchungen fortgeführt und eine Rechenmethode entwickelt, die aus dem Tag der Vergiftung und den später ausgeschiedenen Thalliummengen eine Berechnung der aufgenommenen Giftmenge zuläßt.

Aus diesem Grund war es für die Toxikologie und die forensische Medizin schon immer interessant, das Thallium im Körper des Vergifteten nicht nur nachzuweisen, sondern die ausgeschiedenen Mengen genau zu bestimmen, um auch die Schwere des Vergiftungsfalles ermitteln zu können.

Zu diesem Zwecke wurde eine Vielzahl von Methoden zur Thalliumbestimmung entwickelt, von denen einige kolorimetrische Verfahren auf den folgenden Seiten kurz dargestellt werden sollen.

IV. Kolorimetrische Bestimmungsmethoden aus der Literatur

Zur kolorimetrischen Bestimmung des Thalliums sind besonders in den fünfziger und sechziger Jahren von mehreren Autoren Methoden vorgeschlagen worden. Hierbei handelt es sich fast immer um Farbreaktionen, die dreiwertige Thalliumionen mit Farbstoffen der Fuchsin- und Malachitreihe eingehen. Alle Reaktionsprodukte, die dabei entstehen, können mit organischen Lösungsmitteln extrahiert werden. Diese Verfahren sind im Laufe der Zeit zu leistungsfähigen Bestimmungsverfahren für kleinste Mengen von Thallium entwickelt worden. Dabei soll von den vielen erschienenen Publikationen nur auf die wichtigsten näher eingegangen werden.

1. Rhodamin B

Bereits 1953 berichteten Feigl, Gentil und Goldstein in ihrer Arbeit über den qualitativen Nachweis von Thallium mittels Rhodamin B als Tüpfelreaktion.

Hierbei wird in ein Mikroreagenzglas 1 Tropfen der neutralen oder schwach sauren Thallium-I-Lösung gebracht und 1 Tropfen gesättigtes Bromwasser zugesetzt. Das unverbrauchte Brom wird durch Zusatz von einem Tropfen einer wäßrigen Lösung von Sulfosalicylsäure entfernt, was am Verschwinden der Gelbfärbung leicht zu erkennen ist. Durch die Bromzugabe werden Thallium-I-salze unter Bildung von $TlBr_4^-$ Ionen quantitativ oxidiert. Hierauf werden 1 Tropfen Rhodamin B-Lösung und 6-8 Tropfen reinstes Benzol zugesetzt und geschüttelt. Bei Anwesenheit von Thallium fluoresziert die rote Benzolschicht im UV-Licht intensiv orange-rot.

Die Nachweisgrenze beträgt nach Angaben der Verfasser 0,03 µg Thallium.

2. Methylviolett und Brillantgrün

Eine weitere kolorimetrische Methode zur Bestimmung von Thallium wurde 1957 von Voskresenskaja beschrieben. Sie beruht auf der Reaktion von TlBr_4^- - (bzw. TlCl_4^-) - Anionen mit basischen Farbstoffen wie Methylviolett und Brillantgrün.

Dabei ging die Autorin folgendermaßen vor:

Die zu analysierende Lösung wird mit 1 n HBr und zur Oxidation mit gesättigtem Bromwasser versetzt, der Bromüberschuß abgedampft und die Lösung auf 20 - 25 ml aufgefüllt. Nach Zusatz von entweder 2 Tropfen einer 0,01 %-igen Methylviolettlösung oder 1 ml einer 0,01 %-igen Brillantgrünlösung und 5 ml Amylacetat wird nach dem Ablassen der organischen Schicht nach 15 - 20 Minuten photometriert, wobei bei Methylviolett ein Grünfilter, bei Brillantgrün dagegen ein Rotfilter zu verwenden ist. Dabei ist der mit Brillantgrün gebildete Komplex etwas stabiler als der mit Methylviolett.

Die Erfassungsgrenze beträgt bei der Verwendung von Methylviolett 0,05 µg Thallium/ml, bei Brillantgrün 0,03 µg Tl/ml.

3. Brillantgrün

3.1. Zu den wenigen Veröffentlichungen, die die Anwendung einer Mikromethode für Thallium auf organisches Material behandeln, gehört die von Ariel und Bach 1962 erschienene Arbeit. Sie entwickelten ein Verfahren zur spektralphotometrischen Bestimmung von Thallium im Urin mittels Brillantgrün.

Arbeitsmethode:

Zu einer synthetisch hergestellten Urinprobe (38 g sekundäres Natriumphosphat $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 12 \text{ H}_2\text{O}$, 30 g Natrium- und 9,25 g Ammoniumchlorid gelöst in 500 ml Wasser, dabei entspricht 1 ml dieser Lösung dem durchschnittlichen Salzgehalt von 5 ml physiologischem Harn) wurden $10,5 \mu\text{g Tl}^+$ - Ionen zugegeben und diese mit alkalischer Bromlösung oxidiert. Dann wurde mit Salzsäure angesäuert, Brillantgrün zugegeben und der entstandene Farbkomplex mit Toluol extrahiert. Anschließend wurde das Extinktionsmaximum des Thalliumchlorid - Brillantgrünkomplexes im Toluolextrakt gemessen ($\lambda_{\text{max}} = 640 \text{ nm}$).

Als Oxidationsmittel verwendeten die Verfasser Brom, da sie bei der Verwendung von Natriumnitrit zur Oxidation des Thalliums keine quantitativen Ergebnisse erzielen konnten.

Zur Elimination des Bromüberschusses nahmen sie den im Urin ohnehin vorhandenen Harnstoff.

Für ihre Nachweismethode fanden sie einen Grenzwert von $0,4 \mu\text{g Tl/ml}$ mit einer Standardabweichung von $\pm 10 \%$.

3.2. Auch Reys veröffentlichte 1957 eine Mikromethode zur Thalliumbestimmung in biologischem Material mit Brillantgrün. Dieses Verfahren beruht ebenfalls auf der Eigenschaft des TlCl_4^- , mit Brillantgrün ein Komplexsalz zu bilden, das in Benzol oder Toluol leicht löslich ist.

Methodik:

Zu 1 ml des zu untersuchenden Materials (Blut, Stuhl, Urin) werden 4 ml 5n HCl und 2 ml NaNO_2 -Lösung (6,9 g/100 ml Toluol) gegeben, geschüttelt und die Lösung zur vollständigen Oxidation des Tl^+ zu Tl^{3+} etwa 5 Minuten stehen gelassen. Nach Zugabe von 0,3 ml Brillantgrünlösung (1 g Brillantgrün in 15 ml H_2O und 25 ml Alkohol unter Erwärmen im Wasserbad auflösen) schüttelt man kräftig, gibt

noch 2,5 ml Toluol zu, schüttelt wiederum 15 - 20 Sekunden und läßt dann die Lösung bis zum vollständigen Absetzen der gefärbten Toluolschicht stehen. Die Bestimmung der Extinktion geschieht im Photometer.

3.3. Eine weitere Methode zur Bestimmung von Thallium in Urin und Magenspülflüssigkeit mit Hilfe von Brillantgrün beschrieben Wolf und Lenstra 1964.

In einem 100 ml Kjeldahlkolben versetzt man 50 ml Urin mit 2 ml konz. H_2SO_4 , erhitzt einige Minuten zum Sieden, gibt dann vorsichtig 5 ml 65 %-ige Salpetersäure zu und erhitzt weiter, bis die Flüssigkeit fast verdampft ist und Schwefeltrioxiddämpfe aufsteigen. Dann gibt man 5 ml Wasser zu und erhitzt erneut bis zur SO_3 -Entwicklung, wiederholt diesen Vorgang und dampft jetzt bis zur Trockene ein. Den Rückstand löst man mit 25 ml Wasser, füllt die Lösung in einen Scheidetrichter, gibt 0,2 ml gesättigtes Bromwasser zu und entfernt nach einer Minute das bei der Oxidation nicht verbrauchte Brom durch Zugabe von 0,1 ml gesättigter Sulfosalicylsäurelösung (46 g Sulfosalicylsäure in 20 ml Wasser). Nach Zugabe von 1 ml Brillantgrünlösung (2 g Brillantgrün zu 100 ml in Wasser gelöst) wird 1 Minute lang mit 5 ml Toluol ausgeschüttelt. Man trennt die Toluolschicht ab, extrahiert ein zweites Mal 1 Minute mit 5 ml Toluol und bestimmt die Extinktion der vereinigten Extrakte bei 640 nm.

Die Methode eignet sich nach Angabe der Autoren für Mengen zwischen 0 und 16 μg Thallium.

Alle diese Verfahren beruhen auf der gleichen Reaktion, der Komplexbildung zwischen Tl^{3+} und einer Reihe von alkalischen Farbstoffen wie Rhodamin B, Methylviolett und Brillantgrün.

Dasselbe Prinzip verwendet auch der Autor K.H. Beyer in seiner Arbeitsvorschrift zur Thalliumbestimmung in Blut und Urin, die auf den folgenden Seiten dargestellt und überprüft werden soll.

V. Analysenmethode nach K.H. Beyer

Der Autor beschreibt in seiner Arbeitsvorschrift
"Analysen in biologischem Material, Thallium,
Methodennummer 1

Photometrie"

ein Verfahren, mit dessen Hilfe es relativ einfach möglich ist, den Thalliumgehalt bei akuten und chronischen Vergiftungen zu bestimmen.

1. Prinzip der Analyse

Die Proben werden mineralisiert, das darin enthaltene Thallium mittels Kaliumbromid und Bromwasser zu Tl^{3+} oxidiert und anschließend als Thalliumbromid - Brillantgrünkomplex mit Toluol ausgeschüttelt. Beim Absorptionsmaximum des Farbstoffkomplexes (635 nm) wird gegen einen Leerwert gemessen und auf diese Weise je eine Eichkurve für Wasser sowie für Blut und Urin ermittelt.

Im Verlauf seiner Untersuchungen ermittelte Beyer folgende Zuverlässigkeitskriterien für seine Methode:

Empfindlichkeit: reziproker Eichfaktor $K' = 20,122 \mu g$
 bei 10 ml Toluolmeßlösung
 gültig bis 25 μg Thallium

Präzision: Variationskoeffizient
 VK = 6,7 % bei n = 10 Bestimmungen

Richtigkeit: Wiederfindungsrate M = 95,5 %

Nachweisgrenze: $\underline{x} = 1,0 \mu g$ bei 10 ml Toluolmeßlösung

Querempfindlichkeit: Antimon, Eisen

2. Geräte, Chemikalien und Lösungen

2.1. Geräte

Selbstregistrierendes Spektralphotometer mit Meßmöglichkeit
im sichtbaren Bereich

Kjeldahlkolben, 500 ml

Erlenmeyerkolben, 100 ml

Scheidetrichter, 250 ml

Zentrifugengläser, 25 ml

Pipetten

10 mm Küvetten

2.2. Chemikalien

Konz. Schwefelsäure p.a.

Wasserstoffperoxid 30 %

Bromwasser

Kaliumbromid p.a.

Brillantgrün

Toluol p.a.

Natriumfluorid

Natriumheparin

2.3. Lösungen

Kaliumbromidlösung 10 %-ig

1 g Kaliumbromid wird in Wasser zu 10 ml gelöst

Brillantgrünlösung 0,1 %-ig

25 mg Brillantgrün werden zu 25 ml in Wasser gelöst. Zur Lösung des
Farbstoffes ist gutes Schütteln nötig. Die Farbstofflösung muß täg-
lich frisch angesetzt werden.

3. Probenentnahme und -aufbereitung

3.1. Blut

Mit einem Entnahmebesteck (z.B. Einwegspritze) wird Venenblut entnommen und pro 10 ml Blut etwa 5 mg Natriumheparin zugefügt. Mit Natriumfluorid beschichtete Vakuumvenülen können ebenfalls verwendet werden.

Die Entnahme der Proben sollte innerhalb der ersten 24 Stunden nach vermuteter Intoxikation erfolgen.

3.2. Urin

100 ml eines im Gesamtvolumen bekannten und gut durchmischten 24 - h- Harnes, um falsche Ergebnisse durch Schwankungen in der Thalliumausscheidung zu vermeiden.

4. Analytische Bestimmung

Das im Volumen bekannte Untersuchungsmaterial, z.B. 5 ml Blut oder 25 ml Urin wird im Kjeldahlkolben mit 4 ml konz. Schwefelsäure versetzt und zum Sieden erhitzt. Dann gibt man mit einer Pipette Wasserstoffperoxid solange portionsweise zu, bis es zu einer vollständigen Entfärbung der Lösung kommt. Das Mineralisat wird unter Nachspülen mit Wasser in einen 100 ml Erlenmeyerkolben überführt und nacheinander 1 ml Kaliumbromidlösung und 1 ml Bromwasser zugefügt. Danach wird solange bis zum beginnenden Sieden erhitzt, bis sich die Lösung wieder vollständig entfärbt hat.

Gleichzeitig wird ein Leerwert angesetzt, bei dem die Probe durch destilliertes Wasser ersetzt ist.

Die so gewonnenen Ansätze werden nach dem Abkühlen unter Nachspülen

mit Wasser in 100 - 250 ml Scheidetrichter überführt und mit jeweils 2,0 ml Brillantgrünlösung und 5,0 ml Toluol versetzt.

Jetzt werden die Scheidetrichter 2 Minuten lang kräftig mit der Hand geschüttelt und stehengelassen.

Nach der Klärung werden die unteren wäßrigen Phasen in Erlenmeyerkolben abgelassen und die Toluolschichten, die bei Anwesenheit von Thallium grün gefärbt sind, in Zentrifugengläsern gesammelt. Dann werden die wäßrigen Phasen in die jeweiligen Scheidetrichter zurückgegeben und es wird erneut mit 5,0 ml Toluol extrahiert.

Die Extraktion wird so oft wiederholt, bis die organische Phase, die anfangs rötlich - braun gefärbt ist, völlig farblos erscheint.

Vor der dritten Extraktion mit Toluol ist erneut, je nach Intensität der Grünfärbung der Extrakte, 1,0 oder 2,0 ml Brillantgrünlösung zuzugeben.

Die vereinigten Toluolextrakte werden durch Umschwenken gemischt und bei Vorliegen einer Trübung zentrifugiert. Dann wird die Extinktion der Meßlösung gegen den Leerwert bei 635 nm (Küvettdicke 10 mm) gemessen.

5. Berechnung der Ergebnisse

Im Bereich von 2 - 25 µg Tl pro 10 ml Toluolmeßlösung ist die Eichfunktion $\Delta M = f(x)$ mit $\Delta M = \Delta E$ bei einer Schichtdicke von 10 mm linear.

$\Delta E = E - E_0$ ist die Extinktion bei 635 nm.

Der reziproke Eichfaktor beträgt:

$$K' = \frac{x}{\Delta E} = 20,122 \mu\text{g}$$

und die Quantität Thallium beträgt:

$$x = \Delta E_{635 \text{ nm}/10 \text{ mm}} \times 20,122 \mu\text{g}$$

Bei Extraktionen mit mehr als 10 ml Toluol ist das geänderte Volumen des Extraktionsmittels entsprechend zu berücksichtigen.

6. Beurteilung des Verfahrens

6.1. Präzision

Aus insgesamt 10 Einzelbestimmungen mit 25 ml Urin nach Zusatz von 10 µg Thallium als Thalliumsulfat wurde ein Variationskoeffizient von 6,7 % ermittelt.

6.2. Richtigkeit

Zusätzliche Versuche mit Thalliumsulfat in verschiedenen Konzentrationen zu 25 ml Urin ergaben eine Wiederfindungsrate von 95,5 % bezogen auf die Ergebnisse mit wäßrigen Thalliumlösungen gleicher Konzentration.

6.3. Nachweisgrenze

Unter den angegebenen Analysenbedingungen beträgt die Nachweisgrenze 1 µg Tl/10 ml Toluolmeßlösung.

6.4. Störeinflüsse

Antimon in einer Konzentration von mehr als 0,1 mg/100 ml in der mit Toluol zu extrahierenden Lösung und Eisen in einer Konzentration von mehr als 5 mg/100 ml stören durch Farbreaktion.

Nach dieser Zusammenfassung der Ergebnisse, die Beyer bei seinen Untersuchungen erhielt, sollen nun die bei der Prüfung der Methode ermittelten eigenen Werte dargestellt werden.

VI. Methodenprüfung

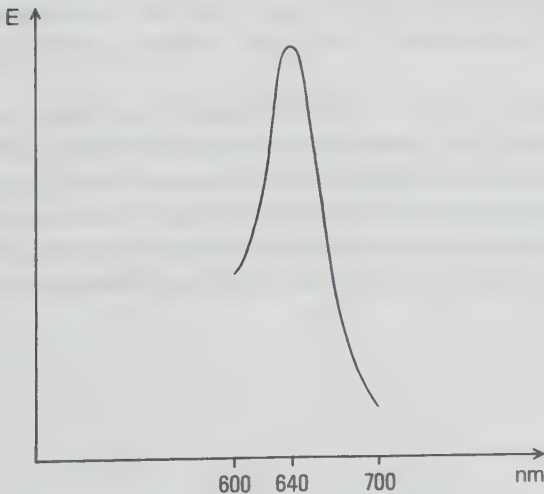
1. Vorbereitende Experimente

1.1. Bestimmung des Extinktionsmaximums

Zunächst wurde genau nach der im vorigen Kapitel beschriebenen Arbeitsvorschrift vorgegangen und in 10 Einzelbestimmungen das Extinktionsmaximum des Brillantgrünkomplexes ermittelt.

Hierbei wurde bei allen 10 Bestimmungen das Extinktionsmaximum bei einer Wellenlänge von 640 nm an einem vorher geeichten Photometer abgelesen, ein Ergebnis, das auch durch die Literatur bestätigt wird (Geldmacher - von Mallinckrodt 1976).

Abbildung 1: Graphische Darstellung des Extinktionsmaximums durch den an das Spektralphotometer angeschlossenen Schreiber



1.2. Beständigkeit des gebildeten Komplexes

Im zweiten vorbereitenden Experiment wurde die Stabilität des Thalliumbromid - Brillantgrünkomplexes in den Toluolextrakten überprüft.

Dazu wurden wiederum 10 Urinproben mit je 10 µg Thallium angestockt und gemäß Arbeitsvorschrift analysiert. Die Extinktionen der Proben wurden jeweils nach 10 Minuten abgelesen.

Bei diesen Versuchen änderte sich die Extinktion der Proben über 90 Minuten nicht. Der Farbkomplex ist also über eine für die Messung im Spektralphotometer völlig ausreichende Zeit stabil.

1.3. Einfluß von Brom auf den Farbstoff

Auch der Einfluß von überschüssigem Brom nach der Oxidation des Tl^+ zu Tl^{3+} auf das Brillantgrün wurde untersucht.

Ein Bromüberschuß in den Proben ist leicht festzustellen, da diese bei ungenügendem Abbrauchen des Broms gelblich gefärbt sind.

Versuche mit Harnproben, die kein Thallium enthielten, sonst genau nach Vorschrift behandelt wurden, bei denen jedoch das Brom nicht vollständig abgedampft wurde, zeigten nach dem Ausschütteln mit Brillantgrün positive Werte, also einen scheinbaren Thalliumgehalt an.

Das Brom reagiert hierbei mit dem Farbstoff und bildet mit ihm gefärbte Derivate, von denen einige in die Toluolphase gehen. Bei 640 nm lassen sich dann positive Extinktionswerte messen, und somit wird das Vorhandensein von Thallium in den Proben vorgetäuscht.

Es ist also darauf zu achten, daß der Bromüberschuß völlig entfernt wird. Das ist erst der Fall, wenn die Probenlösung farblos erscheint.

1.4. Optimales Volumen des Extraktionsmittels

Zur Feststellung der Menge des Extraktionsmittels, die die besten Ergebnisse liefert, wurde bei einer Reihe von Proben mit niedriger Thalliumkonzentration (2 µg/25 ml) und hohem Thalliumgehalt (20 µg/25 ml) geprüft, wie oft man mit 5 ml Toluol 2 Minuten lang ausschütteln muß, bis keine weitere Erhöhung des gemessenen Extinktionswertes eintritt.

Dabei zeigte sich, daß es genügt, zweimal mit je 5 ml Toluol auszuschütteln. Auch bei zusätzlichen Extraktionsversuchen konnte keine Erhöhung des Extinktionswertes festgestellt werden.

1.5. Ermittlung der Nachweisgrenze

Bei den nächsten Versuchen ging es darum, die Nachweisgrenze der zu untersuchenden Methode zu bestimmen. Dazu wurden 15 Proben angesetzt, die kein Thallium enthielten (Leerwert) sowie 15 Proben mit einer Thalliumkonzentration von 1 µg/25 ml Urin.

Nach der vorschriftsmäßigen Behandlung wurde gegen destilliertes H₂O gemessen und es ergab sich:

$$\overline{\Delta E}_{\text{leer}} = 0,029$$

mit einer Standardabweichung $s = 0,002$

und einem Variationskoeffizienten $VK = 6,3 \%$

Als untere Nachweisgrenze wurde nun die gemittelte Extinktion des Leerwertes plus die dreifache Standardabweichung angenommen, das entspricht einer Erfassung von 99,6 % aller möglichen Werte.

Für die untere Nachweisgrenze ergab sich also eine Extinktion von 0,035.

Auch für die 15 Bestimmungen mit 1 µg Tl/25 ml Harn wurden Mittelwert, Standardabweichung und Variation berechnet, wieder wurde gegen H₂O gemessen und dabei folgende Werte ermittelt:

$$\overline{\Delta E_1} = 0,064$$

$$s = 0,007$$

$$VK = 10,6 \%$$

Zur Bestimmung der Nachweisgrenze wurde nun die Standardabweichung vom Mittelwert dreimal subtrahiert; es ergab sich eine Extinktion von 0,043. Dieser Wert liegt über dem Mittelwert des Leerwertes, damit ist die Nachweisgrenze 1 µg Tl/10 ml Toluol.

Wegen des hohen Variationskoeffizienten wurde die Konzentration von 1 µg Tl/10 ml Toluol bei den weiteren Versuchen nicht in Betracht gezogen.

2. Ermittlung der Eichkurve für wäßrige Thalliumlösungen

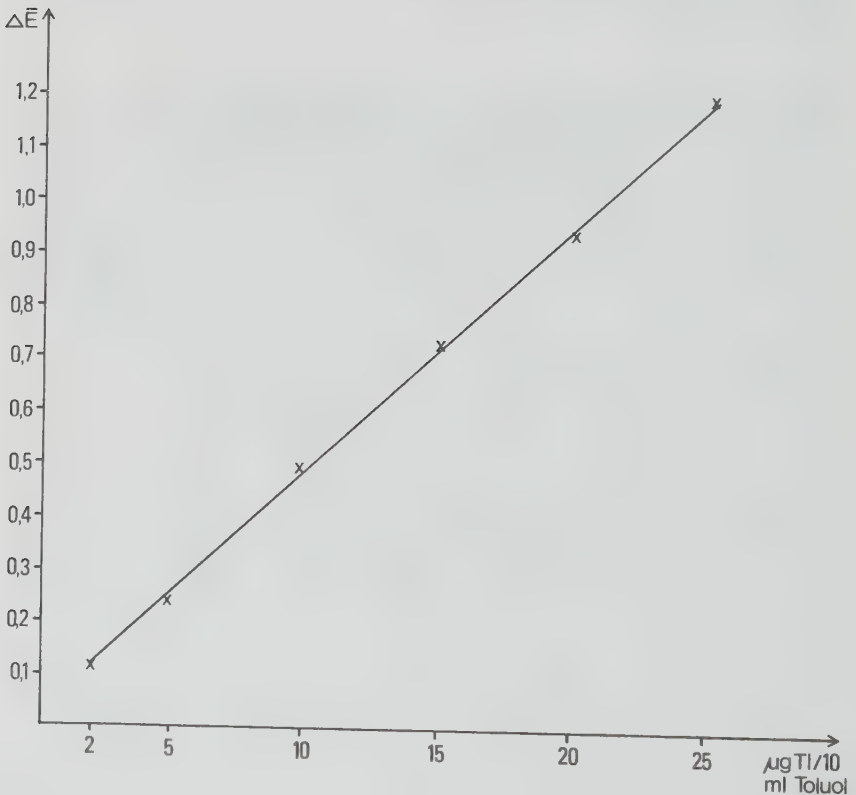
Da das kolorimetrische Verfahren eine relative Analysenmethode darstellt, sind zur Auswertung der gemessenen Extinktionen Eichkurven aus Messungen mit genau bekannten Thalliumkonzentrationen nötig. Dazu wurden je 3 Proben mit 25 ml bidest. H_2O angesetzt, die jeweils 2, 5, 10, 15, 25 μg Tl als Thalliumsulfat enthielten. Erneut wurde genau nach der Vorschrift vorgegangen und bei der Messung im Spektralphotometer bei 640 nm gegen einen Leerwert folgende Ergebnisse ermittelt:

Tabelle 1 Extinktionen von mit Tl aufgestockten
wäßrigen Lösungen gemessen bei 640 nm
gegen einen Leerwert

	2	5	10	15	20	25 μg Tl/10 ml Toluol
ΔE_1	0,140	0,287	0,492	0,720	1,025	1,235
ΔE_2	0,101	0,230	0,475	0,725	0,945	1,200
ΔE_3	0,103	0,244	0,525	0,733	0,851	1,162
$\overline{\Delta E}$	0,115	0,254	0,497	0,726	0,940	1,199

Die Mittelwerte der gemessenen Extinktionen wurden nun graphisch aufgetragen und somit die Eichkurve für wäßrige Thalliumlösungen festgelegt, die als Bezug für die im weiteren Verlauf der Arbeit ermittelten Ergebnisse diente. Die Eichkurve verlief im Bereich von 2 - 25 $\mu\text{g Tl}/10\text{ ml Toluol}$ linear. (Siehe dazu Abb. 2)

Abbildung 2 Eichkurve für wäßrige Thalliumlösungen



Nachdem auf diese Weise die Eichkurve für wäßrige Thalliumlösungen ermittelt worden war, konnten Versuche mit thalliumhaltigem Urin angestellt werden.

3. Bestimmung der Eichkurve für Urin

Wieder wurden je 3 Proben von je 25 ml Urin mit 2, 5, 10, 15, 20 und 25 µg Tl aufgestockt, der Harn vorschriftsmäßig aufgeschlossen, mit Brillantgrün und Toluol ausgeschüttelt und dann bei 640 nm im Spektralphotometer gemessen.

Die dabei gewonnenen Werte sind in Tabelle 2 aufgeführt:

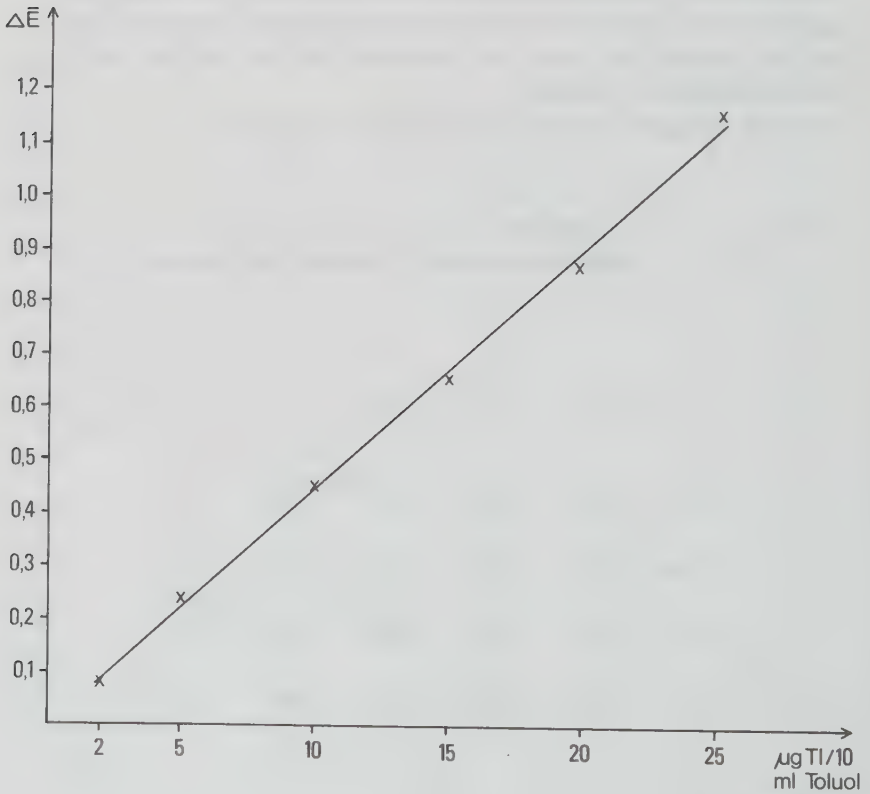
Tabelle 2 Extinktionen von mit Tl aufgestocktem
Normalurin gemessen bei 640 nm gegen Leerwert

	2	5	10	15	20	25 µg Tl/10 ml Toluol
ΔE_1	0,071	0,215	0,477	0,645	0,881	1,132
ΔE_2	0,092	0,279	0,471	0,637	0,850	1,143
ΔE_3	0,105	0,227	0,423	0,685	0,875	1,182
ΔE	0,089	0,240	0,457	0,656	0,869	1,151

Diese Ergebnisse wurden wiederum graphisch aufgetragen, die Eichkurve verlief im Bereich von 2 - 25 $\mu\text{g Tl}/10 \text{ ml Toluol}$ erneut linear. Die dadurch festgelegte Kurve für Urin zeigt Abbildung 3:

Abbildung 3

Eichkurve für Urin



4. Berechnung des Analysenergebnisses

Für die Urineichkurve wurde wie in Kapitel V.5 beschrieben der reziproke Eichfaktor ermittelt, er beträgt bei diesen Versuchen

$$K' = 22,321 \text{ } \mu\text{g bei 10 ml Toluolmeßlösung}$$

und die in der Probe enthaltene Menge Thallium läßt sich aus

$$X = \Delta E_{640 \text{ nm}/10 \text{ mm}} \times 22,321 \text{ } \mu\text{g}$$

errechnen.

5. Beurteilung des Verfahrens

5.1. Präzision

Aus 10 Einzelbestimmungen mit 25 ml Urin nach Zusatz von 10 μg Tl als Thalliumsulfat wurde ein Variationskoeffizient von 6,4 % ermittelt.

$$\overline{\Delta E}_{10} = 0,492$$

$$s = 0,031$$

$$VK = 6,4 \%$$

5.2. Richtigkeit

Zusatzversuche mit verschiedenen Thalliumkonzentrationen in 25 ml Urin ergaben eine Wiederfindungsrate von 93,5 % in Bezug auf die wäßrige Eichkurve.

Tabelle 3 Wiederfindungsrate

Zusatz µg Tl/ 25 ml Urin	wiedergefunden µg Tl/ 25 ml Urin	Tl %
2,0	1,8	90
5,0	4,8	96
10,0	9,6	96
15,0	13,8	92
20,0	18,2	91
25,0	24,0	96

Die wiedergefundene Menge Thallium M wurde folgendermaßen berechnet:

$$M = \frac{\sum M \%}{n} = 93,6 \%$$

6. Thalliummessung im Blut

Um die Anwendungsmöglichkeit dieser Analysenmethode auch für Blut zu bestätigen, wurden Blutproben mit Thallium aufgestockt und nach Arbeitsvorschrift analysiert.

Dazu wurde mit einer Einwegspritze Venenblut von Probanden entnommen und pro 10 ml Blut 5 mg Natriumheparin zugefügt, wie es der Autor angegeben hatte.

Dann wurden je 3 Proben (5 ml Blut) mit einer Thalliumkonzentration von 2, 5, 10, 20 und 25 µg/5 ml Blut versetzt und alle Proben gemäß der Vorschrift aufgeschlossen und gemessen.

Die ermittelten Werte wurden in Tabelle 4 zusammengefaßt:

Tabelle 4 Extinktionen bei verschiedenen Thalliumkonzentrationen im Blut

	2	5	10	15	20	25 µg Tl/10 ml Toluol
ΔE_1	0,122	0,239	0,491	0,758	0,992	1,150
ΔE_2	0,120	0,255	0,479	0,736	0,929	1,217
ΔE_3	0,174	0,284	0,431	0,705	0,970	1,177
ΔE	0,139	0,259	0,467	0,733	0,964	1,181

Wie man aus Tabelle 4 entnehmen kann, ergaben sich hierbei praktisch dieselben Ergebnisse wie bei der Messung von Thallium im Urin.

Die Nachweisgrenze lag bei diesen Untersuchungen bei 1 µg Thallium/5 ml Blut und es wurde eine Wiederfindungsrate von 90,0 % ermittelt.

Eine Anwendung des Verfahrens zur Thalliumbestimmung im Blut ist also möglich.

7. Störeinflüsse durch andere Metallionen

Als letzter Schritt der Methodenprüfung wurden die Störeinflüsse anderer Metallionen auf die Thalliumbestimmung mit Brillantgrün untersucht.

Da in der Literatur die unterschiedlichsten Angaben gemacht werden (Geldmacher - von Mallinckrodt 1976, Koch und Koch-Dedic 1974), wurde eine Reihe von Harnproben ohne Thalliumaufstockung angesetzt, verschiedene Kationen zugesetzt und auf Farbkomplexbildung mit Brillantgrün geprüft.

Von den überprüften Kationen Fe^{3+} , Sn^{2+} , Sb^{3+} , As^{3+} , Hg^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} und Cu^{2+} erwiesen sich Antimon in einer Konzentration von mehr als 0,1 mg/100 ml und Eisen in Konzentrationen von mehr als 5,0 mg/100 ml in der mit Toluol zu extrahierenden Lösung als störend.

Beide Metallionen reagieren ähnlich wie Thalliumbromid unter Bildung gefärbter Komplexe mit Brillantgrün. Sie besitzen etwa dasselbe Absorptionsmaximum wie Thallium.

Diese störenden Anionen lassen sich jedoch durch geeignete Verfahren eliminieren.

Zum Beispiel kann man Antimon durch mehrfaches Trockendampfen der Untersuchungslösungen mit HBr entfernen. Schließlich kann man Thallium von allen Elementen (ausgenommen Gold) durch Extraktion des Tl-Bromids mit Äther aus 1 n HBr-Lösung trennen. Man dampft den Äther aus dem Extrakt ab und zerstört die organischen Stoffe durch Erhitzen und darauffolgendes Abrauchen mit Schwefelsäure und Wasserstoffperoxid. Zum Rückstand setzt man dann 3 ml 1 n HBr-Lösung und 2 ml Bromwasser hinzu, dampft den Bromüberschuß ab und photometriert wie oben nach Zusatz von Brillantgrün und Toluol (Voskresenskaja 1957).

VII. Standardisierung der Methode

Mit den vorangegangenen Experimenten waren die Ergebnisse von K.H. Beyer im wesentlichen bestätigt worden. Bei der Durchführung der Versuche fielen uns jedoch einige Einzelheiten auf, die uns verbesserungswürdig erschienen.

Hier wäre zunächst der Aufschluß des Untersuchungsmaterials im Kjeldahlkolben zu nennen, der durch die moderne Technik überholt worden ist.

Weiter hatten wir Schwierigkeiten mit dem Abdampfen des Bromüberschusses, was wie bereits erwähnt, vollständig geschehen muß, da sich sonst falsch positive Werte bei der Bestimmung des Thalliumgehalts in den Proben ergeben.

Der Autor schreibt über das Abdampfen folgendes:

"Danach wird der Erlenmeyerkolben solange zum beginnenden Sieden erhitzt, bis die Lösung wieder farblos wird."

Dieses gestaltete sich jedoch äußerst schwierig, denn trotz vorsichtigsten Erhitzens entwich aus den Kolben des öfteren eine größere Menge Untersuchungslösung, wobei natürlich auch entsprechende Mengen Thallium mitgerissen wurden.

Dem Institut steht zur Mineralisation von biologischem Untersuchungsmaterial ein Veraschungsgerät, der Büchi Digestor 445 zur Verfügung. Mit Hilfe dieses Gerätes wollten wir nun die Arbeitsvorschrift erneut prüfen und möglichst verbessern.

1. Aufschluß der Proben im Veraschungsgerät

Um reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten, wurde versucht, für alle Arbeitsschritte ein Schema zu erarbeiten und in dieser Arbeit festzuhalten.

1.1. Reagentien:

 H_2SO_4 96 % suprapur (Firma Merck)
 HNO_3 65 % suprapur (Firma Merck)
Aqua bidestillata

1.2. Versuchsvorbereitung:

Aufheizen des Salzbadess auf 300°C .

Anschluß an die Wasserstrahlpumpe.

Ausrichten der Quarzkolben auf exakt gleiche Höhe, um gleiche Eintauchtiefe = gleiche Temperatur in allen Kolben zu erreichen.

Die Eintauchtiefe der Quarzkolben in das Bad wird folgendermaßen eingeteilt:

Eintauchtiefe	0	=	0,5 cm über dem Bad	=	Skala 35
	I	=	0,5 cm im Bad	=	Skala 25
	II	=	1,0 cm im Bad	=	Skala 20
	III	=	1,5 cm im Bad	=	Skala 15

1.3. Durchführung der Veraschung

Es werden je 25 ml Urin bzw. 5 ml Blut in die Quarzkolben gefüllt und dazu je 0,5 ml 96 %-ige Schwefelsäure pipettiert. Jetzt werden die Quarzkolben von unten auf den Schliff des Luftkühlers aufgesetzt und an der Verbindungsstelle mehrmals mit Teflonband umwickelt und mit einer Halteklammer gesichert. Die oberen Austrittsöffnungen der Luftkühler werden mit einem Silikonstopfen verschlossen. Anschließend läßt man die Kolben

5 Minuten bei Skala 35

bei eingeschaltetem Gebläse und steilem Anstellwinkel der Luft-

kühler rotieren, um eine starke Schaumentwicklung, die bei sofortigem Eintauchen der Kolben in das Salzbad auftreten würde, zu verhindern.

Dann werden die Quarzkolben mittels der automatischen Hebevorrichtung angehoben und nach kurzem Abkühlen werden pro Kolben über den jeweiligen Luftkühler 4 ml 65 %-ige Salpetersäure zugegeben. Jetzt läßt man die Kolben erneut

5 Minuten bei Skala 35

rotieren. Die getrennte Säurezugabe dient ebenfalls zur Vermeidung einer zu starken Schaumentwicklung in den Kolben. Nun wird die Eintauchtiefe I eingestellt und mit Hilfe der Automatik folgende Eintauch-/Abkühlungszeiten

3/15 Sekunden über 15 Minuten

beibehalten.

In der Folge werden die nachstehenden Eintauch- und Abkühlzeiten gewählt:

Eintauchtiefe II Automatik	5 : 15	30 Minuten
II Automatik	7 : 15	45 Minuten
II Automatik	15 : 15	15 Minuten

Es liegt nun eine klare, schwach gelbliche Veraschungslösung vor, die jedoch noch Nitrosegase enthält. Zum Abrauchen dieser Gase wird zunächst der Anstellwinkel der Kolben flach gestellt und die Temperatur des Salzbad auf 340° C erhöht, sowie die Eintauchtiefe III eingestellt. Bis zum Erreichen dieser Temperatur wird die Einstellung der Automatik im Verhältnis 15 : 15 belassen.

Im nächsten Schritt werden die Kolben in das Salzbad abgesenkt und der Rotor in Abständen von etwa 30 Sekunden ein- und ausgeschaltet.

Dies wird solange wiederholt, bis im Luftkühler keine braunen Dämpfe (Nitrosegase) mehr wahrzunehmen sind.

Die Matrix ist nun fast bis auf die Schwefelsäure eingeeengt, und es bleibt eine klare, leicht gelbliche Aufschlußflüssigkeit zurück.

Die letzten Reste der Salpetersäure werden durch Zugabe von Aqua bidest. und anschließendes Abrauchen entfernt. Dazu werden die Kolben mittels Hebevorrichtung aus dem Bad gehoben und über die Einfüllstutzen am Luftkühler etwa 5 ml Aqua bidest. nachgefüllt. Dann wird abgesenkt und der sich bildende Wasserdampf durch den Sog der Wasserstrahlpumpe abgesaugt. Dies wird solange wiederholt, bis die Aufschlußflüssigkeit vollständig farblos ist. Nach kurzem Abkühlen füllt man je 25 ml Aqua bidest. in die Kolben und schaltet den Rotor ein. Dadurch wird der Veraschungsrückstand vollständig gelöst.

Durch diesen Aufschluß der Proben in einem geschlossenen System, wie es diese Apparatur darstellt, wird ein Verlust des Thalliums bei der Veraschung des Untersuchungsmaterials verhindert.

2. Oxidation des Thalliums und Abdampfen des überschüssigen Broms in der Veraschungsapparatur

Auch der zweite Unsicherheitsfaktor, das Abdampfen des nicht verbrauchten Broms, kann in diesem Gerät sehr einfach und ohne Verluste von Untersuchungslösungen ausgeschaltet werden.

Zu diesem Zweck gibt man über die Einfüllstutzen der Kolben je 1 ml Kaliumbromidlösung und dann 1 ml gesättigtes Bromwasser zu. Jetzt erfolgt die quantitative Oxidation von Tl^+ zu Tl^{3+} . Das Vorhandensein von überschüssigem Brom ist unschwer an der auftretenden Gelbfärbung der Untersuchungslösung zu erkennen.

Zum Abdampfen des Broms stellt man nun die Automatik des Gerätes auf 10 : 10 und läßt über die automatische Hebe- und Absenkvorrichtung etwa drei- bis fünfmal in das Salzbad eintauchen, bis die Lösungen in den Quarzkolben wieder völlig farblos erscheinen.

Nach dem Abkühlen werden die Proben in die Scheidetrichter gefüllt und nach Vorschrift des Autors K.H. Beyer wie auf Seite 18 beschrieben ausgeschüttelt und gemessen.

3. Ermittlung der Eichkurve

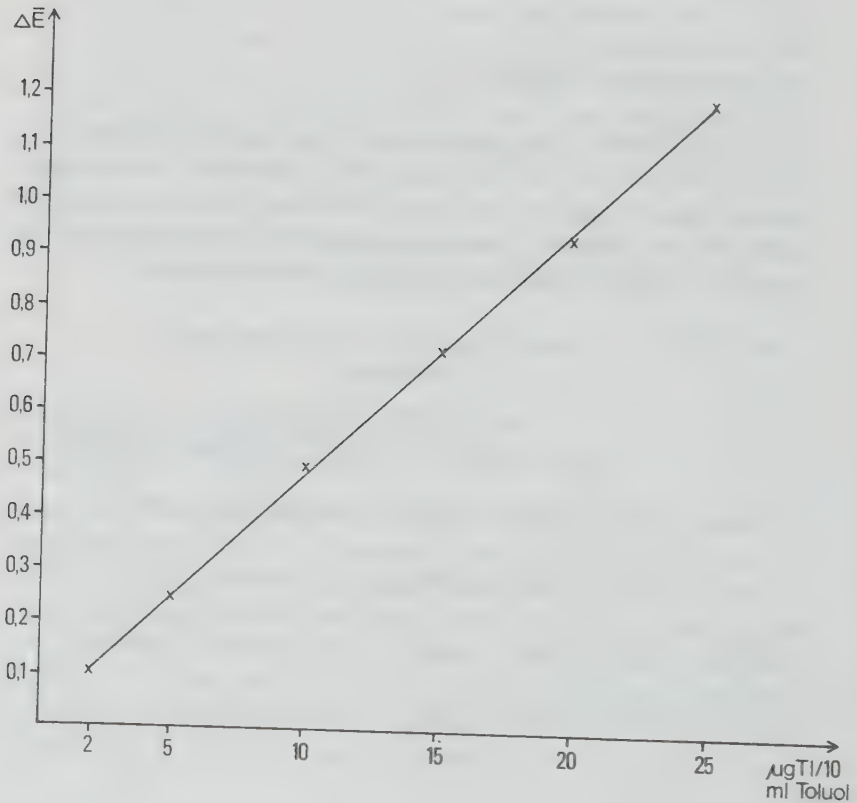
Nachdem wiederum je drei Harnproben mit Thalliumkonzentrationen von 2, 5, 10, 15, 20 und 25 $\mu\text{g Tl}/25 \text{ ml}$ Urin hergestellt worden waren, wurden sie im Büchi 445 wie oben beschrieben mineralisiert, der Bromüberschuß abgedampft und ausgeschüttelt. Bei der Messung im Spektralphotometer ergaben sich folgende Extinktionswerte:

Tabelle 5 Gemessene Extinktionen nach Analyse im
Büchi-Veraschungsgerät

	2	5	10	15	20	25 $\mu\text{g Tl}/10$ ml Toluol
ΔE_1	0,128	0,243	0,584	0,758	0,950	1,290
ΔE_2	0,089	0,260	0,469	0,670	0,958	1,112
ΔE_3	0,113	0,242	0,468	0,709	0,898	1,189
— ΔE	0,110	0,248	0,495	0,721	0,935	1,197

Die gemittelten Extinktionen wurden gegen die Thalliumkonzentrationen aufgetragen und auf diese Weise die in Abbildung 4 dargestellte Eichkurve festgelegt.

Abbildung 4 Graphische Darstellung der Eichkurve für Urin
nach Analyse im Veraschungsgerät



4. Berechnung der Ergebnisse

4.1. Empfindlichkeit

Es wurde ein reziproker Eichfaktor $K' = 21,368 \mu\text{g}$ bei 10 ml Toluolmeßlösung errechnet. Die Quantität Thallium in den Proben beträgt bei dieser Methode

$$X = \Delta E_{640 \text{ nm}/10 \text{ mm}} \times 21,368 \mu\text{g}$$

4.2. Präzision

Bei $n = 6$ Bestimmungen ergab sich bei einer Thalliumkonzentration von $5 \mu\text{g} / 25 \text{ ml}$ Harn

$$\overline{\Delta E} = 0,244 \qquad s = 0,013 \qquad \text{VK} = 5,4 \%$$

und einer Konzentration von $25 \mu\text{g} / 25 \text{ ml}$ Harn

$$\overline{\Delta E} = 1,194 \qquad s = 0,043 \qquad \text{VK} = 3,59 \%$$

4.3. Richtigkeit

In Bezug auf die wäßrige Eichkurve ergab sich bei Zusatzversuchen eine Wiederfindungsrate von 98,3 %.

Tabelle 6 Wiederfindungsrate nach Analyse im Veraschungsgerät

Zusatz µg Tl/ 25 ml Urin	wiedergefundenes Tl µg/25 ml Urin	Tl %
2	1,9	95,0
5	4,9	98,0
10	9,9	99,0
15	14,9	99,3
20	19,8	99,0
25	24,9	99,6

Wiederfindungsrate M:

$$M = \frac{\sum M \%}{n} = 98,3 \%$$

Diese Ergebnisse zeigen, daß sowohl Präzision als auch Richtigkeit bei Verwendung des Veraschungsgerätes besser sind als bei der Veraschung der Untersuchungslösungen im Kjeldahlkolben und Abdampfen des überschüssigen Broms im Erlenmeyerkolben.

VIII. Vergleich mit anderen Methoden zur Thalliumbestimmung

1. Anwendung auf einen klinischen Fall

Da im Institut zur gleichen Zeit auch noch andere Methoden zur Thalliumbestimmung geprüft wurden, lag es nahe, die Leistungsfähigkeit der einzelnen Methoden miteinander zu vergleichen.

Zu diesem Zweck wurden Urinproben eines Patienten untersucht, bei dem eine Thalliumvergiftung diagnostiziert worden war. Wir bestimmten die Thalliumkonzentration im Urin des Patienten im 24 h - Urin vom 28.5.78 (Probe 1) und vom 29.5.78 (Probe 2).

Als Vergleichsmethoden wurden zwei heute gängige Verfahren zur Thalliumbestimmung gewählt, die Polarographie und die Atomabsorption. Alle Proben wurden im Veraschungsgerät aufgeschlossen und danach je nach Verfahren weiterbehandelt und ausgewertet.

Dabei wurden folgende Thalliumkonzentrationen gemessen:

	Polarographie	Atomabsorption	Kolorimetrie
Probe 1	3,8 mg/l	4,3 mg/l	4,2 mg/l
Probe 2	3,4 mg/l	3,2 mg/l	3,0 mg/l

Diese Ergebnisse zeigen, daß man mit jeder der drei verglichenen Methoden durchaus in der Lage ist, Thalliumkonzentrationen im Urin bei Intoxikationen recht genau zu messen.

2. Bestimmung der linearen Regression zweier Thalliumbestimmungsmethoden

Um einen weiteren Vergleich mit anderen Methoden zu erhalten, wurde für die beiden Methodenvorschriften der Arbeitsgruppe der Arbeitsstoffkommission der Deutschen Forschungsgemeinschaft:

1. "Analysen in biologischem Material, Thallium,
Methodennummer 1,

Photometrie"

Autor K.H. Beyer und

2. "Analysen in biologischem Material, Thallium ,
Methodennummer 2,

Inversvoltametrie"

Autor H. Seiler

die lineare Regression ermittelt.

Hierfür wurden thalliumhaltige Urinproben, hergestellt durch Aufstockung eines Poolharnes mit verschiedenen Thalliumkonzentrationen sowie Urinproben von Personen mit Thalliumvergiftung, nach beiden Verfahren in Einzelbestimmungen analysiert.

Der Aufschluß aller Harnproben erfolgte erneut am Büchi-Veraschungsapparat nach der in Kapitel VII beschriebenen Vorschrift.

Die weitere Behandlung der Proben geschah nach den oben aufgeführten Vorschriften.

Die lineare Regression der beiden Methoden wurde sowohl für die absolut im Probenansatz enthaltene Thalliummenge, als auch für den Thalliumgehalt pro Liter Untersuchungsmaterial berechnet.

Im Büchi-Veraschungsgerät können pro Ansatz nur jeweils 6 Probenlösungen mineralisiert werden.

Bei unserem Versuch wurden sowohl nach der Methode nach Seiler als auch nach der Methode nach Beyer je 3 Proben eines Poolharnes, aufgestockt mit 80, 200, 400, 600, 800 und 1000 µg Tl/l, und jeweils 3 Proben von Tl-Vergiftungsharnen (Nr. 3, 4, 5 und 6) verascht und gemessen.

Wegen dieser hohen Anzahl von Untersuchungslösungen waren mehrere Aufschlüsse notwendig. Die ermittelte lineare Regression berücksichtigt also auch die Streuung beider Verfahren durch den Veraschungsvorgang.

Zur Berechnung der linearen Regression wurden jeweils die Mittelwerte aus den 3 Meßergebnissen verwendet.

Lineare Regression

1. bezogen auf den absoluten Tl-Gehalt in der eingesetzten Probenmenge (25 ml) (siehe Tab. 7 und Abb. 5)

$$r^2 = 0,9808$$

$$a = - 2,006$$

$$b = 1,203$$

2. bezogen auf den Tl-Gehalt pro Liter Probe (siehe Tab. 8 und Abb. 6)

$$r^2 = 0,9982$$

$$a = - 142,22$$

$$b = 1,225$$

Hiermit konnte bewiesen werden, daß man beide Methoden zur Messung des Thalliumgehaltes im Urin verwenden kann und bei beiden Verfahren dieselben Meßergebnisse erhält.

Tabelle 7 Ermittelte absolute Tl-Menge im Analysenansatz (25 ml)

Poolharn mit Tl-Konzentra- tion in µg/l	Polarographische Be- stimmung nach Seiler (µg Tl absolut)	Farbphotometrische Bestimmung nach Beyer (µg Tl absolut)
80	2,075	2,61
200	5,62	5,08
400	9,28	10,53
600	15,92	14,22
800	20,87	19,74
1000	25,046	25,57
Vergiftungsharn		
Nr.		
3	35,907	44,43
4	30,16	35,80
5	43,31	49,435
6	30,48	35,61

Tabelle 8 Ermittlung des Tl-Gehaltes pro Liter Probe

Poolharn auf- gestockt mit µg Tl/l	Polarographische Be- stimmung nach Seiler (µg Tl/l)	Farbphotometrische Bestimmung nach Beyer (µg Tl/l)
80	83,01	104,4
200	224,80	203,25
400	371,39	421,13
600	636,95	568,75
800	834,86	789,46
1000	1001,82	1022,9
Vergiftungsharn		
Nr.		
3	7181,4	8886,0
4	6032,84	7160,0
5	4330,7	4944,0
6	3048,1	3561,0

Abbildung 5 Lineare Regression zweier Thalliumbestimmungsmethoden im Urin bezogen auf den absoluten Tl-Gehalt der eingesetzten Probenmenge

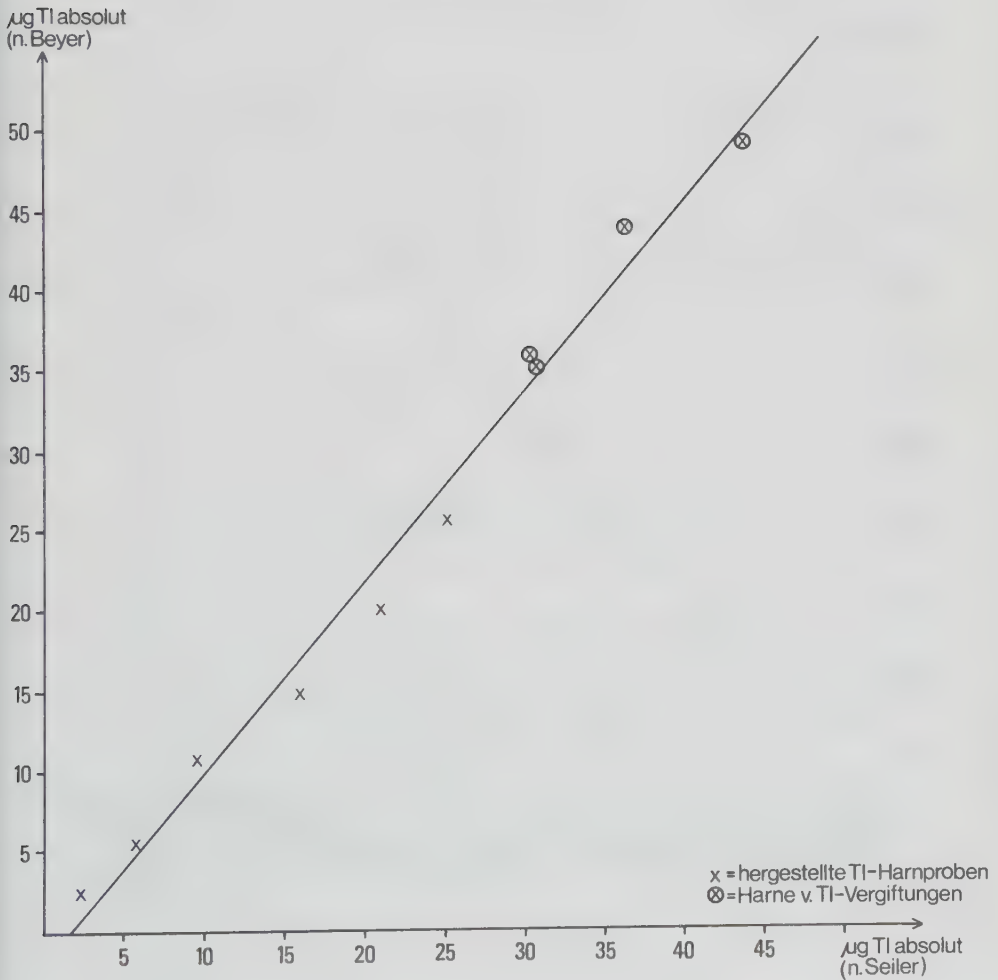
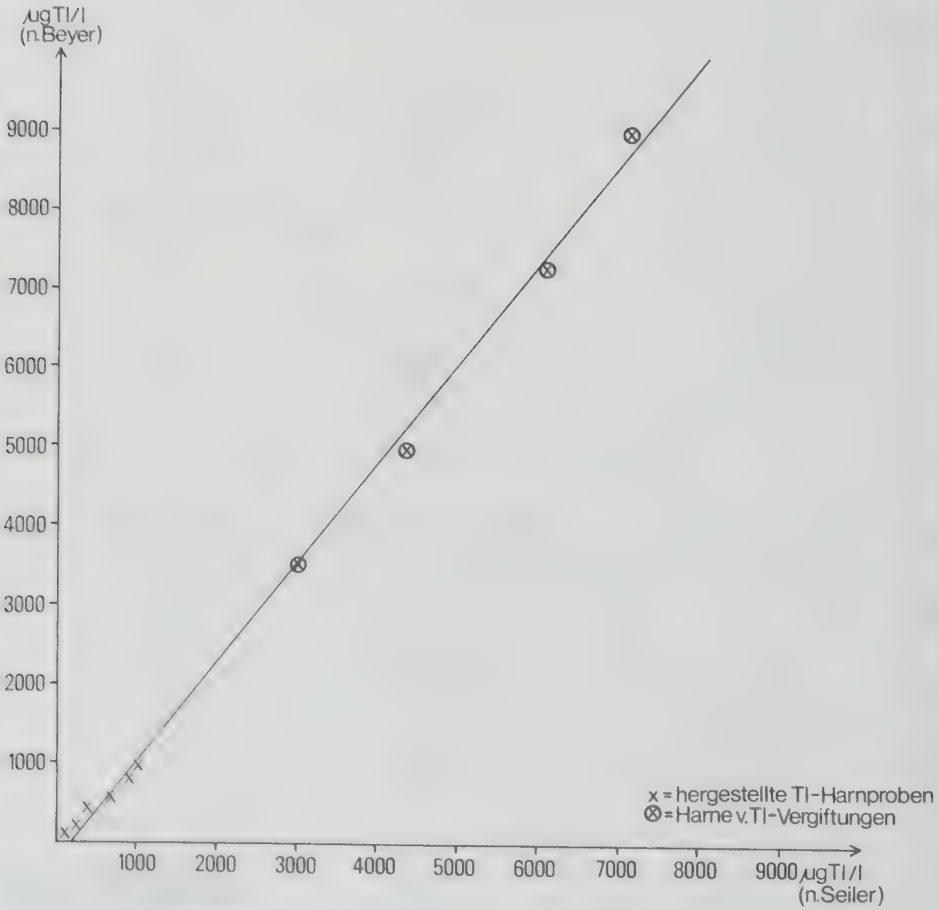


Abbildung 6

Lineare Regression zweier Thalliumbestimmungsmethoden im Urin bezogen auf den Tl-Gehalt pro Liter Probe



IX. Diskussion

Wie die von uns durchgeführten Experimente bestätigen, stellt der Autor K.H. Beyer mit seiner Arbeitsvorschrift eine leistungsfähige Methode zum quantitativen Nachweis von Thallium in Blut und Urin vor.

Diese Möglichkeit des Thalliumnachweises ist gerade deshalb von so großer Bedeutung, da die Analysen relativ einfach durchzuführen sind und zur Messung keine aufwendige und damit störanfällige technische Apparatur wie zum Beispiel bei der Polarographie oder der Atomabsorption nötig ist. K.H. Beyer kann mit seiner Arbeitsvorschrift alle Laboratorien ansprechen, in denen toxikologische Untersuchungen durchgeführt werden, da dort überall Spektralphotometer vorhanden sind.

Seine einfach durchzuführende Analysenmethode erreicht eine zur Erkennung von akuten und chronischen Thalliumvergiftungen völlig ausreichende Empfindlichkeit und ist zur schnellen Überprüfung einer Diagnose gut geeignet.

Da die Vorschrift eine relative Meßmethode darstellt, ist es nötig, vor der Verwendung des Verfahrens für klinische Untersuchungen eine Eichkurve aufzustellen, aus der dann die Ergebnisse schnell und einfach abzulesen sind.

Durch einen Vergleich mit anderen Methoden (Polarographie, Atomabsorption) bei der Anwendung auf einen klinischen Fall konnte die praktische Anwendbarkeit dieses Analysenverfahrens bewiesen werden. Die Ermittlung der linearen Regression zweier Verfahren (Polarographie, Photometrie) bestätigte die Zuverlässigkeit erneut.

Eine Verbesserung der Präzision und der Wiederfindungsrate kann durch die Verwendung einer Veraschungsapparatur erreicht werden, was jedoch die Analysendauer von ca. 45 Minuten auf etwa 4-5 Stunden erhöht.

X. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde zunächst eine kurze Übersicht über das "Gift" Thallium gegeben sowie einige der wichtigsten in der Literatur beschriebenen kolorimetrischen Meßverfahren vorgestellt.

Es folgte eine Darstellung der Arbeitsvorschrift von K.H. Beyer und die Prüfung dieses Analysenverfahrens. Darüberhinaus wurde versucht, eine weitere Standardisierung des Versuchsablaufes zu erarbeiten.

Im weiteren Verlauf wurde die Methode anhand eines klinischen Falles mit anderen heute Anwendung findenden Bestimmungsverfahren verglichen und die lineare Regression zweier Analysenmethoden der Deutschen Forschungsgemeinschaft (Inversvoltametrie, Photometrie) ermittelt.

XI. Literaturübersicht

1. Arbab-Zadeh, A., O. Prokop und W. Reimann
Rechtsmedizin.
Gustav Fischer Verlag Stuttgart-New York (1977)
2. Ariel, M. und D. Bach
The Determination of Thallium in Urine.
Analyst, Vol. 88,30 (1962)
3. Barchet, R. und Th. P. Haag
Zum Nachweis von Thallium in Körperflüssigkeiten, insbesondere
in Urin.
Arbeitsmed. Sozialmed. Arbeitshyg. 3,188 (1968)
4. Bartels, O.
Akute Vergiftungen.
Deutsche Ärzte-Verlags GmbH (1975)
5. Berg, S.
Grundriß der Rechtsmedizin.
Verlag von Rudolph Müller und Steinicke (1976)
6. Beyer, K.H. und M. Möller
Thallium, Methodennummer 1, Photometrie in
Analysen in biologischem Material Bd. 2,1
Herausgeber D. Henschler
Verlag Chemie GmbH Weinheim (1978)
7. Browning, E.
Toxicity of Industrial Metals.
Butterworth London (1969)
8. Buschke, A.
Über gewerbliche Thalliumvergiftungen.
Med. Klinik II,1042 (1928)

9. Curry, A.
Poison Detection in Human Organs.
Charles C. Thomas, Publisher Springfield /Illinois (1969)
10. Dietz, G. und W. Dürwald
Gerichtliche Medizin.
Verlag Barth Leipzig (1976)
11. Feigl, F., V. Gentil und D. Goldstein
Zum Nachweis von Thallium mit Rhodamin B in der Tüpfelanalyse
und in der Spurensuche.
Analyt. chim. Acta 9,393 (1953)
12. Forster, B. und D. Ropohl
Rechtsmedizin.
Ferdinand Enke Verlag Stuttgart (1979)
13. Forth, W., D. Henschler und W. Rummel
Pharmakologie und Toxikologie.
B.I. Wissenschaftsverlag Mannheim-Wien-Zürich (1977)
14. Fühner, H.
Medizinische Toxikologie.
Georg Thieme Verlag Stuttgart (1951)
15. Geilmann, W., K. Beyermann, K.-H. Neeb und R. Neeb
Thallium, ein regelmäßig vorhandenes Spurenelement im
tierischen und pflanzlichen Organismus.
Biochem. Z. 333,62 (1960)
16. Geldmacher- von Mallinckrodt, M.
Einfache Untersuchungen auf Gifte im klinisch-chemischen
Laboratorium.
Georg Thieme Verlag Stuttgart (1976)

17. Giovannini, S.
Zwei Fälle von Alopezie nach Gebrauch von Thalliumazetat.
Dermat. Zschr. 1899,695
18. Goenechea, S. und K. Sellier
Ober den natürlichen Thalliumgehalt des menschlichen Körpers.
Dt. Zschr. gerichtl. Med. 60,135 (1967)
19. Haberda, A.
Giftmord durch Thallium.
Beitr. gerichtl. Med. Bd. 7,1 (1923)
20. Hauschild, F.
Pharmakologie und Grundlagen der Toxikologie.
VEB Georg Thieme Leipzig (1973)
21. Henning, K.
Zur Entgiftung des Thalliums.
Z. ges. Inn. Med. 15,348 (1960)
22. Jander, G. und E. Blasius
Lehrbuch der analytischen und präparativen
anorganischen Chemie.
S. Hirzel Verlag Stuttgart (1979)
23. Klimmer, O.R.
Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel
Abriß einer Toxikologie und Therapie von Vergiftungen.
Hundt-Verlag Hattingen (1971)
24. Klöppel, A. und G. Weiler
Beitrag zur Schwermetallvergiftung, insbesondere durch
Thallium.
Dt. med. Wschr. 103,75 (1978)

25. Koch, O.G. und G.A. Koch-Dedic
Handbuch der Spurenanalyse Teil 2.
Springer Verlag Berlin-Heidelberg-New York (1974)

26. Lee, A.G.
The Chemistry of Thallium.
Elsevier Publishing Company Amsterdam-London-New York (1971)

27. Machbert, G.
Über die renale Thalliumausscheidung beim Menschen und die
Berechnung aufgenommener Mengen.
Vortrag auf der 50. Tagung der Deutschen Gesellschaft
für Rechtsmedizin Oktober 1971 Köln

28. Möllhoff, G., G. Schmidt und J. Bösche
Thalliumvergiftungen.
Arch. Krim. 163,2 (1979)

29. Moeschlin, S.
Klinik und Therapie der Vergiftungen.
Georg Thieme Verlag Stuttgart-New York (1980)

30. Mueller, B.
Gerichtliche Medizin Teil 2.
Springer Verlag Berlin-Heidelberg-New York (1975)

31. Okonek, S.
Vergiftungen, Entgiftung, Giftinformation.
Springer Verlag Berlin-Heidelberg-New York (1981)

32. Pertschneider, H. und H. Hartmann
Leitfaden der Gerichtsmedizin.
Verlag Hans Huber Bern-Stuttgart-Wien (1981)

33. Reys, N.W.
Eine Mikromethode zur Thalliumbestimmung im
biologischen Material.
Laboratornoje Delo 6,12 (1957)
34. Rodermund, O.E., S. Goenechea und K. Sellier
Beitrag zur Ausscheidung von Thallium im Urin nach
subletaler Vergiftung.
Zschr. Haut- Geschl. Krht. 44,12 : 425 (1969)
35. Seiler, H.
Thallium, Methodennummer 2, Inversvoltametrie in
Analysen in biologischem Material Bd. 2,1
Herausgeber D. Henschler
Verlag Chemie GmbH Weinheim (1980)
36. Sunshine, I.
Methodology for Analytical Toxikology.
CRC Press Cleveland/Ohio (1975)
37. Teleky, L.
Gewerbliche Vergiftungen.
Springer Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg (1955)
38. Voskresenskaja, N.T.
Kolorimetrisches Bestimmungsverfahren für Thallium mit
Methylviolett und Brillantgrün.
Z. anal. Chem. 157,357 (1957)
39. Weinig, E. und Gg. Schmidt
Über den Konzentrationsabfall des Thalliums im Harn
bei subletalen Vergiftungen am Menschen.
Beitr. ger. Med. 22,331 (1962)

40. Weinig, E. und Gg. Schmidt
Zur Verteilung des Thalliums im Organismus bei
tödlichen Thalliumvergiftungen.
Arch. Tox. 21,199 (1966)
41. Weinig, E. und P. Zink
Über die quantitative massenspektrometrische Bestimmung
des normalen Thalliumgehalts im menschlichen Organismus.
Arch. Tox. 22,255 (1967)
42. Widy, W.
Die Pigmentansammlung in den Haarwurzeln bei Thallium-
vergiftungen.
Hautarzt 10,216 (1959)
43. de Wolf, J.N.M. und J.B. Lenstra
Pharm. Weekbl. 99,377 (1964)
Zit. nach Barchet und Haag (1968).

Danksagung

Besonders herzlich danke ich Frau Professor Dr. Dr. M. Geldmacher - v. Mallinckrodt für die Überlassung des Themas, ihre große Hilfsbereitschaft und die zu jeder Zeit freundlich erteilten Ratschläge.

Herrn Professor Dr. H. - B. Wuermeling, Vorstand des Instituts für Rechtsmedizin der Universität Erlangen-Nürnberg, danke ich für die Übernahme des Korreferates.

Lebenslauf

Personalien: Maximilian Gotthard Maier,

geb. 3. März 1958 in Passau

Familienstand: verheiratet

Staatsangehörigkeit: deutsch

Eltern: Maximilian Maier, Kfz-Meister

Elisabeth Maier, geb. Bauer

Ausbildung: Volksschule: 1964 - 1968 in Hacklberg

Gymnasium: 1968 - 1977 math. nat. Gymn.
in Passau

Abitur 1977

Universität: 1978 - 1983

Zahnmedizin in Erlangen

Staatsexamen März - August 1983

Druck: Copy Center 2000
Obere Karlstraße 30
8520 Erlangen